

**BIOATIVIDADE DE EXTRATOS DE ANNONACEAE  
SOBRE *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera:  
Culicidae).**

**JOSDEMAR MUNIZ DE MORAES**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais para obtenção do título de Mestre.

**CÁCERES  
MATO GROSSO, BRASIL  
2009**

**JOSDEMAR MUNIZ DE MORAES**

**BIOATIVIDADE DE EXTRATOS DE ANNONACEAE SOBRE  
*Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae).**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof. <sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mônica Josene B. Pereira

**CÁCERES  
MATO GROSSO, BRASIL  
2009**

**JOSDEMAR MUNIZ DE MORAES**

**BIOATIVIDADE DE EXTRATOS DE ANNONACEAE SOBRE**

***Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae).**

Esta Dissertação foi julgada e aprovada com requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Cáceres-MT, 06 de março de 2009.

**BANCA EXAMINADORA**

**Profª Drª Antonia Railda Roel**

Universidade Católica Dom Bosco - Campo Grande - MS

**Profª Drª Carla Galbiati**

Universidade do Estado de Mato Grosso - Cáceres - MT

---

**Profª Drª Mônica Josene Barbosa Pereira**

Universidade do Estado de Mato Grosso - Cáceres – MT  
(Orientadora)

**CÁCERES  
MATO GROSSO, BRASIL  
2009**

## **DEDICATÓRIA**

A toda a minha família que sempre estiveram presente incentivando e apoiando-me nos momentos vivenciados no decorrer de mais uma conquista.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Ciências Ambientais.

À profª Drª Mônica Josene Barbosa Pereira pela orientação, motivação e apoio prestado durante a realização da pesquisa.

À profª Drª Carla Galbiat pelo apoio prestado durante a realização da pesquisa e também pelo empréstimo de materiais do Programa CETApis – Arranjo Produtivo Local em Apicultura da Região Sudoeste do Mato Grosso, para a realização dos experimentos.

À UNEMAT – Campus Tangará da Serra, pelo apoio na produção dos extratos vegetais.

À profª Drª Heloisa Helena Garcia da Silva e a técnica Carmeci Natalina Elias do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, pela colaboração nas metodologias de trabalhos.

Aos meus familiares, em especial, aos meus pais e meus irmãos, a minha esposa Elaine e aos meus filhos Joselayne, Josedemar Júnior, Josiel e Jonathan pela alegria, dedicação e compreensão pelos momentos vividos.

À Secretaria de Saúde e de Educação do estado de Mato Grosso pela oportunização da qualificação profissional.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram com esta pesquisa.

A Deus por instruir-me com sabedoria nos momentos preciosos desta vida e por me abençoar em mais uma etapa vencida nesta vida.

## ÍNDICE

	Página
Lista de Tabelas .....	6
Resumo .....	7
Abstract .....	8
Introdução Geral .....	9
Referência .....	12
I. Efeito larvívica de extratos de <i>Annona coriacea</i> (Mart., 1841), <i>Annona dioica</i> (A. St. Hil., 1825) e <i>Xylopiá aromática</i> (Lam.) (Mart., 1841) sobre <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). .....	15
II. Avaliação da atividade de <i>Annona coriacea</i> (Mart., 1841) sobre pupas e adultos de <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). .....	34
Considerações Finais .....	53

## LISTA DE TABELAS

Páginas

### **I. Efeito larvicida de extratos de *Annona coriacea* (Mart., 1841), *Annona dioica* (A. St. Hil., 1825) e *Xylopiya aromatica* (Lam.) (Mart., 1841) sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae).**

Tabela I - Efeito das concentrações de extrato bruto etanólico de *Annona dioica*, *Annona coriacea* e *Xylopiya aromatica* sobre mortalidade em larvas de 3º estágio de *Aedes aegypti* em 12 horas de exposição ( $p < 0,05$ ). ..... 26

Tabela II – Percentagens de mortalidade de larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti* em diferentes concentrações do extrato etanólico de *Annona coriacea*, em 24 horas de exposição ( $p < 0,05$ ). ..... 27

### **II. Avaliação da atividade de *Annona coriacea* (Mart., 1841) sobre pupas e adultos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae).**

Tabela 1 – Mortalidade de pupas de *Aedes aegypti* em diferentes concentrações de extrato etanólico de *Annona coriacea* sobre mortalidade em 48 horas de exposição ( $p < 0,05$ ). ..... 43

Tabela 2 - Efeito das concentrações de extrato bruto etanólico de *Annona coriacea* sobre mortalidade de fêmeas de *Aedes aegypti* em 24 horas de exposição. .... 44

## RESUMO

MORAES, Josdemar Muniz de. **Bioatividade de extratos de Annonaceae sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)**. Cáceres: UNEMAT, 2009. 54p. (Dissertação – Mestrado em Ciências Ambientais)<sup>1</sup>.

A Saúde Pública na prevenção e combate ao mosquito da dengue *Aedes aegypti* utiliza inseticidas sintéticos como os piretróides e organofosforados que podem apresentar efeitos indesejáveis à saúde humana e ao meio ambiente, além de promover seleção de populações de mosquito resistentes a estes grupos químicos. Diante dessa problemática, pesquisas com produtos naturais apontam o uso de extratos vegetais como alternativa viável de combate ao vetor. Portanto, este trabalho teve como objetivos, verificar a ação dos extratos etanólico e metanólico da semente *Annona coriacea*, *Annona dioica* e *Xylopia aromatica* sobre larvas de *Aedes aegypti* e determinar a concentração letal (CL) da espécie com maior atividade, bem como, avaliar a atividade do extrato etanólico de *A. coriacea* sobre pupas e adultos de *A. aegypti*. Os extratos foram previamente solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO). No bioensaio larvicida, foram utilizadas 20 larvas de 3º estágio em 25 mL nas concentrações de 100, 80, 50, 20 e 10 ppm, em três réplicas por 12 horas de exposição. Na determinação da concentração letal (CL) testou-se em 20, 15, 10, 8, 6, 4, e 2 ppm com cinco réplicas, em 24 horas de exposição. Para avaliar a atividade pupicida, foram utilizadas 10 pupas em 25 mL nas concentrações de 500, 400, 300, 200, 100 e 50 em quatro réplicas, por 48 horas de exposição. Para o teste adulticida, 20 fêmeas foram expostas a papel filtro tratado com 2 mL nas concentrações de 10000, 8000, 6000, 4000, 2000, 1000 ppm, em três réplicas e a mortalidade foi avaliada após 24 horas. Os extratos etanólico e metanólico de *A. coriacea* apresentaram 100% de mortalidade das larvas de *A. aegypti* em 50 ppm, enquanto a *A. dioica* obteve respectivamente 75,0 e 85,0%. A espécie *X. aromatica* não apresentou atividade larvicida nas concentrações testadas. A espécie *X. aromatica* não apresentou atividade larvicida. A espécie *A. coriacea* apresentou em 24 horas de exposição CL90 com 7,14 ppm e CL50 com 3,14 ppm. O extrato de *A. coriacea* apresentou atividade pupicida com 62,5% de mortalidade na concentração de 500 ppm. Após a emergência da pupa, a mortalidade de adultos foi de 91,6% na concentração de 500 ppm. O extrato de *A. coriacea* não apresentou ação adulticida sobre *A. aegypti*, nas concentrações testadas. Contudo, sugerem-se novos testes, com aplicação tópica, conforme verificado em outras pesquisas. Estes resultados mostram que o extrato de *A. coriacea* apresenta eficiência larvicida e pupicida e poderá viabilizar novas pesquisas para o controle da dengue.

Palavras-chave: Annonaceae, bioinseticidas, dengue.

---

<sup>1</sup> Orientadora: Mônica Josene Barbosa Pereira – UNEMAT.

## ABSTRACT

MORAES, Josdemar Muniz de. **Bioactivity of the extracts of Annonaceae on *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae).** Cáceres: UNEMAT, 2009. 54p. (Dissertation – Master Program in Environmental Sciences)<sup>1</sup>.

Public Health Department uses synthetic insecticides like pyrethroids and organophosphates in prevention and combat against the dengue mosquito *Aedes aegypti* and these chemical groups may present negative effects on human health and environment and promote the coming out of resistant mosquito populations. With this problem in hand, research on natural products shows the use of vegetal extracts as a viable alternative to combat the vector. This work aimed to verify the action of ethanolic and methanolic extracts from seeds of *Annona coriacea*, *Annona dioica* and *Xylopia aromatica* on *A. aegypti* larvae, and to determine the Lethal Concentration (LC) of the species with the most significant activity, and evaluate the activity of the ethanolic extract from *A. coriacea* on pupae and adult individuals of *A. aegypti*. The extracts were previously solubilized in dimethylsulfoxide (DMSO). In the larvicide bioassay we used 20 third-instar larvae in 25mL with 100, 80, 50, 20 and 10ppm concentrations, with three replica in 12 hours of exposition. Five replica in 24 hours of exposition were tested with 20, 15, 10, 8, 6, 4 and 2 ppm in order to determine lethal concentration. To evaluate pupicide activity, 10 pupae were used in 25mL with 500, 400, 300, 200, 100 and 50 ppm concentrations with four replica in 48 hours of exposition. In adulticide test, 20 female individuals were exposed to 2mL treated filter paper with 10000, 8000, 6000, 4000, 2000, and 1000 ppm in three replica and the mortality rate was evaluated after 24 hours. The methanolic and ethanolic extracts of *A. coriacea* presented *A. aegypti* larvae mortality rate of 100% with 50 ppm, while *A. dioica* presented 75,0% and 85,0% respectively. *X. aromatica* did not present any activity with the tested concentrations. *A. coriacea* presented LC90 with 7.14ppm and LC50 with 3.14ppm in 24 hours of exposition. With 500 ppm concentration The extract of *A. coriacea* presented pupa mortality rate of 62.5% and early emerged adult mortality rate of 91.6%. The extract of *A. coriacea* did not present adulticide action on *A. aegypti* with the tested concentrations. We suggest new tests with different methods and higher concentrations, as we observed in other researches. These results show that the extract of *A. coriacea* presents larvicide and pupicide efficiency and may allow more research in dengue control.

KeyWords: Annonaceae, bioinsecticide, dengue.

---

<sup>1</sup> Major Professor: Mônica Josene Barbosa Pereira – UNEMAT.

## INTRODUÇÃO GERAL

Os mosquitos são importantes vetores de agentes etiológicos de doenças humanas como, dengue, febre amarela, leishmaniose, malária e filariose. A dengue é uma doença infecciosa, causada por vírus do gênero *Flavivirus* transmitida pelo mosquito contaminado do gênero *Aedes*. O principal mosquito transmissor da dengue nas Américas é o *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (BRASIL, 2005).

O processo de transmissão da dengue se inicia através da picada de fêmeas, que ao se alimentarem de sangue para suprir suas necessidades protéicas no processo de oviposição, ingere sangue de uma pessoa infectada no período de viremia, e termina com a inoculação do vírus, por meio da picada em um hospedeiro humano susceptível (TEIXEIRA et al., 2006).

A distribuição, densidade e frequência desse vetor estão associados a presença humana e as condições sócio ambientais. Esses mosquitos são essencialmente diurnos, com picos de atividades hematofágicas ao amanhecer e ao crepúsculo vespertino (FURTADO et al., 2005). Os adultos vivem em média de 30 a 35 dias, podendo as fêmeas deslocar até 3 km na busca do local ideal para oviposição (SANTOS, 2003).

A estratégia utilizada para prevenção e combate ao mosquito da dengue, é a utilização em larga escala de inseticidas sintéticos piretróides e organofosforados no controle desse vetor. O uso de tais inseticidas acarreta problemas de intoxicação e contaminação ambiental, o que ocasiona grave problema à saúde humana. Devido às intoxicações agudas e crônicas, as dermatites de contato causam a irritação do sistema respiratório. Esses são os principais sintomas registrados perante a exposição a esses produtos (AUGUSTO e CÂMARA NETO, 2005).

Para a saúde ambiental, o uso contínuo desses inseticidas pode apresentar efeitos indesejáveis, como a permanência por longos períodos de tempo no ambiente, a seleção de populações de vetores resistentes e o aparecimento de novas pragas. Fatores esses que resultam no aumento de morbidade e mortalidade por dengue (GLASSER e DONALÍSIO, 2002).

Desde a década de 70, são relatadas resistências das formas adulta de *A. aegypti*, devido à ação residual dos inseticidas BHC, DDT e Dieldrin

(BROGDON e MCALLISTER, 1998). Pesquisas recentes demonstram a resistência desse vetor aos atuais inseticidas, em vários locais do mundo tais como: Tailândia (JIRAKANJANAKIT et al., 2007), Cuba, Peru e Venezuela (RODRÍGUEZ et al., 2007). No Brasil, a resistência foi verificada em Campo Grande-MS (CAMPOS e ANDRADE, 2003); São Paulo (LUNA et al., 2004); Distrito Federal (CARVALHO et al., 2004); Rio de Janeiro, Sergipe e Alagoas (BRAGA et al., 2004).

Diante dessa problemática, pesquisas estão sendo desenvolvidas na busca de métodos alternativos de combate ao vetor. Vários pesquisadores tem trabalhado com produtos naturais, visando obter substâncias inseticidas extraídas de plantas, com atuação no desenvolvimento embrionário, na fase larval, pupal e na emergência dos adultos (POHLIT et al., 2004; LIMA et al., 2006).

Vários trabalhos têm demonstrado o efeito de extratos de plantas sobre *A. aegypti*. Prempre e Sukhpath (1990) avaliaram *Derris elliptica* (Bent.,1860); Pizarro et al. (1999) apresentam efeitos da *Agave sisalana* (Perrine & Engelm, 1875); Pohlit et al. (2004) citam *Tapura amazonica* (Poepp. & Endl., 1842), *Piper aduncum* (L., 1753), *P. tuberculatum* (Jacq., 1844) e *Simaba polyphylla* (Thomas, 1985); Lima et al. (2006) relatam *Croton argyrophyloides* (Müll. Arg., 1865), *Croton nepetaefolius* (Baill.,1864), *Croton sonderianus* (Müll. Arg., 1866) e *Croton zehntneri* (Pax & K. Hoffm., 1923); Porto et al. (2008) apresentam *Anacardium humile* Saint Hill.

A família Annonaceae apresenta em sua composição as acetogeninas, com ação citotóxica, antitumoral, inseticida, vermícida, abortiva, antimicrobiana, imunossupressora, antiemética, inibidora do apetite e antimalárica (NASCIMENTO et al., 2003). Muitas destas espécies de anonáceas são reconhecidas por apresentar propriedade inseticida no controle de *A. aegypti*, conforme pesquisas realizadas com *Annona squamosa* (L., 1753) (MONZON et al., 1994; GOSWAMI e RABHA, 2007), *Annona crassiflora* (Mart., 1841) (LIMA 2005), *Annona glabra* (L., 1753) (MENDONÇA et al., 2005), *Annona muricata* (L., 1753) (BOBADILLA et al., 2005; HENAO et al., 2007).

Diante desta contextualização, e por meio desta dissertação, objetivou-se avaliar a atividade inseticida de algumas espécies de anonáceas no combate ao mosquito da dengue *A. aegypti*, como alternativa de controle

menos agressiva à saúde humana e ao meio ambiente, sendo organizada em dois capítulos.

O primeiro capítulo intitulado “Efeito larvicida de extratos de *Annona coriacea* (Mart., 1841), *Annona dioica* (A. St. Hil., 1825) e *Xylopiia aromatica* (Mart., 1841) sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)”, que teve como objetivo, verificar a atividade larvicida de *A. coriacea*, *A. dioica* e *X. aromática* sobre larvas de *A. aegypti* e determinar a concentração letal, daquela espécie que apresentar melhor atividade.

O segundo capítulo intitulado “Avaliação da atividade de *Annona coriacea* (Mart., 1841) sobre pupas e adultos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)”, cujo objetivo era testar os efeitos pupicida e adulticida de *A. coriacea* sobre de *A. aegypti*.

## REFERÊNCIAS

- AUGUSTO, L. G. S.; CÂMARA NETO, H. F. O combate químico das pragas domésticas: um problema oculto de saúde pública. In: L. G. da S. Augusto; R. M. Carneiro; P. H. Martins. **Abordagem ecossistêmica em saúde – ensaios para o controle da dengue**. Recife, Ed. Universitária UFPE, 2005, 382 p.
- BRAGA, I. A.; LIMA, J. B. P.; SOARES, S. S.; VALLE, D. *Aedes aegypti* Resistance to Temephos during 2001 in Several Municipalities in the States of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. **Memória Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 2, p. 199-203, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**, Secretaria de Vigilância em Saúde – 6. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 816 p.
- BOBADILLA, M. ZAVALA, F.; SISNIEGAS, M.; ZAVALETA, G.; MOSTACERO, J.; TARAMONA, L. Evaluación larvicida de suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus «guanábana» sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae). **Revista Peruana de Biología**, v. 12, p. 145-152, 2005.
- BROGDON, W. G.; MCALLISTE, J. C. Insecticide Resistance and Vector Control. **Emerging Infectious Diseases**, 1998.
- CAMPOS, J.; ANDRADE, C. F. S. Susceptibilidade larval de populações de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* a inseticidas químicos. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 4, p. 523-527, 2003.
- CARVALHO, M. S. L.; CALDAS, E. D.; DEGALLIER, N.; VILARINHOS, P. T. R.; SOUZA, L. C. K. R.; YOSHIZAWA, M. A. C.; KNOX, M. B.; OLIVEIRA, C. Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 5, p. 623-629, 2004.
- FURTADO, R. F.; LIMA, M. G. A.; ANDRADE NETO, M.; BEZERRA, J. N. S.; SILVA, M. G. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 843-847, 2005.
- GLASSER, C. M.; DONALÍSIO, M. R.; Vigilância Entomológica e Controle de Vetores do Dengue. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 3, 2002.

GOSWAMI, N. G.; RABHA, B. Preliminary evaluation of mosquito larvicidal efficacy of plant extracts. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 44, p. 145-148, 2007.

HENAO, G. J.; PAJÓN, C. M. G.; TORRES, J. M. C. Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) vector del dengue en Colombia. **Rev CES Medicina**, v. 21, p. 47-54, 2007.

JIRAKANJANAKIT, N.; SAENGTHARATIP, S.; RONGNOPARUT, P.; DUCHON, S.; BELLEC, C.; YOKSAN, S. Trend of Temephos Resistance in *Aedes (Stegomyia)* Mosquitoes in Thailand During 2003–2005. **Environmental Entomology**, v. 36, n. 3, 2007.

LIMA, M. R. F. **Contribuição para o conhecimento fitoquímico e da atividade biológica de *Annona crassiflora* Mart. e *Schinus terebinthifolius* Raddi**. Tese (Doutorado em Química/Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, CE, p. 202, 2005.

LIMA, M. G. A.; MAIA, I. C. C.; SOUSA, B. D.; MORAIS, S. M.; FREITAS, S. M. Effect of stalk and leaf extracts from Urophorbiaceae species on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae. **Revista Instituto Medicina Tropical**, v. 48, p. 211-214, 2006.

LUNA, J. E. D.; MARTINS, M. F.; ANJOS, A. F.; KUWABARA, E. F.; SILVA, M. A. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temephos e cipermetrina, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, p. 824-3, 2004.

MENDONÇA, F. A. C.; SILVA, K. F. S.; SANTOS, K. K.; RIBEIRO JÚNIOR, K. A. L.; SANT'ANA, A. E. G. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. **Fitoterapia**, v. 76, p. 629-636, 2005.

MONZON, R. B.; ALVIOR, J. P.; LUCZON, L. L.; MORALES, A. S.; MUTUC, F. E. Larvicidal potential of five Philippine plants against *Aedes aegypti* (Linneus) and *Culex quinquefasciatus* (Say). **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, v. 25, p. 755-759, 1994.

NASCIMENTO, F. C.; BOAVENTURA, M. A. D.; ASSUNÇÃO, A. C. S.; PIMENTA, L. P. S. Acetogeninas de anonáceas isoladas de folhas de *Rollinia laurifolia*. **Química Nova**, v. 26, p. 319-322, 2003.

PIZARRO, A. P. B.; OLIVEIRA FILHO, A. M.; PARENTE, J. P.; MELO, M. T. V.; SANTOS, C. E.; LIMA, P. R. O aproveitamento do resíduo da indústria do sisal no controle de larvas de mosquitos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 1, p. 23-29, 1999.

POHLIT, A. M.; QUIGNARD, E. L. J.; NUNOMURA, S. M.; TADEI, W. P.; HIDALGO, F. A.; PINTO, A. C. S. et al. Screening of plants found in the State of Amazonas, Brazil for larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae. **Acta Amazônica**, v. 34, p. 97–105, 2004.

PORTO, K. R. A.; ROEL, A. R.; SILVA, M. M.; COELHO, R. M.; SCHELEDER, E. J. D.; JELLER, A. H.; Atividade larvicida do óleo de *Anacardium humile* Saint Hill sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 586-589, 2008.

PREMPREE, P.; SUKHAPANTH, N. Phytochemical toxicity of the crude the extract from *Derrys ellipytica* Bentham on mosquito larvae. **Journal of the Science Society of Thailand**, v.16, p. 133-139, 1990.

RODRÍGUEZ, M. M.; BISSET, J. A.; FERNANDEZ, D. Levels of insecticide resistance and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from some Latin American countries. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 23, n. 4, p. 420–429, 2007.

SANTOS, S. L. **Avaliação das ações de controle da dengue: aspectos críticos e percepção da população**. Dissertação Mestrado, Departamento de Saúde Coletiva, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2003.

TEIXEIRA, K. R. P.; BRITO, J. R.; OLIVEIRA, L. M. F.; COSTA, L. F.; OLIVEIRA, A. M.; FONSECA, C. A. Incidência do vírus da dengue na região metropolitana de Goiânia. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, p. 53-55, 2006.

**I - Efeito larvicida de extratos de *Annona coriacea* (Mart., 1841), *Annona dioica* (A. St. Hil., 1825) e *Xylopia aromatica* (Lam.) (Mart., 1841) sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae).**

[Preparado de acordo com as normas da revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical]

**Larvicidal effect of *Annona coriacea* (Mart., 1841), *Annona dioica* (A. St. Hil., 1825) and *Xylopia aromatica* (Lam.) (Mart., 1841) extracts against *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae).**

**Josdemar Muniz de Moraes<sup>1</sup>, Mônica Josene Barbosa Pereira<sup>2</sup>  
Carla Galbiati<sup>2</sup> e Elaine Maria Loureiro<sup>3</sup>**

**RESUMO**

Este estudo teve como objetivos verificar a atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* dos extratos etanólico e metanólico da semente *Annona coriacea*, *A. dioica* e *Xylopia aromatica* e determinar a concentração letal. Utilizou-se 20 larvas de 3º estágio e como controle fez-se uso do solubilizante DMSO. Foram testadas três réplicas, em 12 horas de exposição. Para determinação da CL50 e CL90 testou-se cinco réplicas, em 24 horas de exposição. Os extratos etanólico e metanólico de *A. coriacea* apresentaram 100% de mortalidade das larvas de *A. aegypti* em 50 ppm, enquanto que *A. dioica* obteve respectivamente 75,0 e 85,0%. A espécie *X. aromatica* não apresentou atividade larvicida. A espécie *A. coriacea* apresentou em 24 horas de

---

<sup>1</sup> Vigilância em Saúde, Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso, Mato Grosso, MT.

<sup>2</sup> Mestrado em Ciências Ambientais, Universidade do Estado de Mato Grosso, Cáceres, MT.

<sup>3</sup> Programa CETApis – Arranjo Produtivo Local em Apicultura da Região Sudoeste do Mato Grosso, Universidade do Estado de Mato Grosso, Cáceres, MT.

*Endereço para correspondência:*

Dr. Mônica Josene Barbosa Pereira    monica@unemat.br    mjosene@hotmail.com  
Universidade do Estado de Mato Grosso.    Rodovia MT 358, Km 7.    Bairro Aeroporto.    Caixa Postal: 287  
Tangará da Serra- MT, CEP 78300-000

exposição CL90 com 7,14 ppm e CL50 com 3,14 ppm. Estes resultados indicam que *A. coriacea* apresentou efeito larvicida, sobre *A. aegypti*, sendo uma ferramenta promissora para o controle deste vetor na saúde pública.

**Palavras-chaves:** Annonaceae. Bioinseticidas. Larvicida. Dengue.

## **ABSTRACT**

Larvicide effect of ethanolic and methanolic extracts from the seeds of *Annona coriacea*, *A. dioica* and *Xylopia aromatica* on *Aedes aegypti* was verified and the lethal concentration was determined. 20 third-instar larvae were used in the bioassay and DMSO was used as control. Three replica were tested in 12 hours of exposition. Five replica in 24 hours of exposition were tested to determine LC50 and LC90. Ethanolic and methanolic extracts of *A. coriacea* presented a 100% of *A. aegypti* larvae mortality rate in 50ppm while *A. dioica* presented respectively 75,0 and 85,0%. *X. aromatica* did not present larvicide activity. *A. coriacea* presented, in 24 hours of exposition, a LC90 with 7,14 ppm and a LC50 with 3,14 ppm. These results show that *A. coriacea* presented larvicide effect on *A. aegypti*, being therefore a promising tool to control this vector in public health.

**Key-words:** Annonaceae. Bioinsecticide. Larvicide. Dengue.

A dengue é um dos principais problemas de saúde pública no mundo e, de acordo com a Organização Mundial da Saúde<sup>7</sup>, estima-se que 80 milhões de pessoas sejam infectadas anualmente com cerca de 550.000 hospitalizações e 20.000 óbitos. Esta doença é uma arbovirose disseminada, especialmente nos países tropicais, onde as condições favorecem o

desenvolvimento e a proliferação do seu principal vetor, o mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (DIPTERA: CULICIDAE)<sup>6</sup>.

A dengue é causada por vírus do gênero *Flavivirus* que são transmitidos através da picada de fêmeas de *A. aegypti* infectada, no ciclo humano – *A. aegypti* - humano, ao se alimentarem de sangue supri as necessidades protéicas para a oviposição<sup>17</sup>.

A estratégia utilizada para a prevenção e combate a esse mosquito é a utilização de inseticidas sintéticos, principalmente temephós (organofosforado) e cipermetrina (piretróide). O uso contínuo desses inseticidas tem provocado a seleção de populações resistentes, ocasionando problemas para o controle desses vetores, e ainda, causando grave risco à saúde humana e ao meio ambiente<sup>1 2 9 14</sup>.

Os impactos negativos destes inseticidas tem estimulado o desenvolvimento de pesquisas com produtos naturais<sup>3 16</sup>. Trabalhos têm demonstrado a eficácia de extratos vegetais e seus compostos isolados no controle de *A. aegypti*. A atividade larvicida de algumas anonáceas foi comprovada em pesquisas desenvolvidas com *Annona muricata* (L., 1753)<sup>5</sup>, *Annona squamosa* (L., 1753)<sup>12 7</sup>, *Annona crassiflora* (Mart., 1841)<sup>9</sup> e *Annona glabra* (L., 1753)<sup>11</sup>.

Portanto, essa pesquisa tem como objetivos verificar a atividade inseticida de *Annona coriacea*, *Annona dioica* e *Xylopia aromatica* sobre larvas de *A. aegypti* e determinar as concentrações letais 50 e 90 daquela espécie que apresentar melhor atividade, como alternativa de controle do vetor da dengue.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Preparação dos extratos.** Foram coletados frutos maduros da *A. coriacea*, *A. dioica* e *X. aromatica* em áreas de cerrado na região de Tangará da Serra-MT, em 2007 e 2008. Esses foram processados no Laboratório de Química da Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT – Campus Tangará da Serra. Os extratos foram obtidos por meio a adição de 500g do pó da semente com 1.500 mL de solvente, sendo utilizado metanol e etanol no preparo dos extratos. Estes permaneceram durante 72 horas a temperatura ambiente. As suspensões foram filtradas em funil Büchner. Os solventes foram evaporados em rotavapor até adquirirem a estabilidade da massa, obtendo os extratos brutos etanólico e metanólico.

**Colônia de mosquito *Aedes aegypti*.** A criação do *A. aegypti* originou-se de ovos doados pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – IPTSP, da Universidade Federal de Goiás – UFG. As larvas para os bioensaios foram criadas no laboratório de Entomologia da UNEMAT, Campus Cáceres. A metodologia de criação de *A. aegypti* foi realizada de acordo com Silva<sup>15</sup>, com algumas modificações. Os adultos foram mantidos em gaiola de criação, no laboratório de entomologia, contendo em seu interior um chumaço de algodão, embebido em solução açucarada a 10%. As fêmeas foram alimentadas com camundongos presos numa tela, em dias alternados durante 6 horas. No interior da gaiola de criação, colocou-se papel filtro em forma de cone, para postura, sendo este trocado diariamente. Para obtenção das larvas, o papel filtro contendo ovos foi colocado em um recipiente plástico com água. Após a eclosão, as larvas foram alimentadas com ração para gatos, previamente

triturada, até a fase de pupa. Estas foram colocadas em copos, tipo âmbar, cobertos com tecido organza até a emergência dos adultos. Em seguida, foram transferidos para a gaiola de criação. As fases de ovo, larva e pupa do mosquito, foram desenvolvidas no interior de câmara climatizada a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $80 \pm 5\%$  e fotofase de 12 horas. Os bioensaios foram conduzidos no laboratório de entomologia, nas condições de temperatura de  $28,5 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $60 \pm 10\%$  e de fotofase de 12 horas.

**Bioensaios.** Os testes larvicida foram realizados de acordo com a metodologia da Organização Mundial da Saúde<sup>18</sup> com modificações na quantidade de solução e no número de larvas. Foram usados copos descartáveis de polietileno de 50 mL com 25 mL da solução teste, juntamente com 20 larvas de 3º estágio de *A. aegypti*. Utilizou-se a mesma quantidade de larvas e o solubilizante dimetilsulfóxido (DMSO) para os grupos controles. Para o primeiro bioensaio foram utilizadas as concentrações de 100, 80, 50, 20 e 10 ppm de cada extrato. O experimento foi realizado em triplicata e avaliou-se a mortalidade em 12 horas de exposição. No segundo bioensaio, para determinar a CL90 e a CL50 foi selecionado o extrato que apresentou mortalidade larval superior a 85% na menor concentração. Portanto, utilizou-se o extrato etanólico de *A. coriacea* nas concentrações de 20, 15, 10, 8, 6, 4, e 2 ppm. O experimento foi desenvolvido em quintuplicata e avaliou-se a mortalidade em 24 horas de exposição.

**Análise estatística.** Para o primeiro bioensaio foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 6, sendo três espécies de plantas e seis diferentes concentrações de extratos. As avaliações da mortalidade sob as diferentes concentrações dos extratos foram submetidas à

análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%. Para as análises foi utilizado o SAEG (Programa Sistema de Análises Estatísticas). Para o segundo bioensaio foi utilizado o mesmo procedimento citado anteriormente, sendo realizada a análise Probit, para determinar as concentrações letais (CL50 e 90) e os respectivos intervalos de confiança (IC).

## RESULTADOS

O processo de extração de *A. coriacea*, *A. dioica* e *X. aromatica* com etanol, resultou 51,5, 37,9 e 66,2g de extrato bruto, enquanto com metanólico foi 56,3, 39,0 e 65,2g, respectivamente.

As espécies *A. coriacea* e *A. dioica* demonstraram eficiência na mortalidade das larvas de *A. aegypti* ( $p < 0,05$ ), e foram estatisticamente diferentes em todas as concentrações utilizadas em relação ao controle (0 ppm), com um tempo de exposição de 12 horas, enquanto os extratos de *X. aromatica* não apresentaram mortalidade nas concentrações testadas em nenhum dos solventes (Tabela I).

Nas concentrações de 80 e 100 ppm não houve diferença estatística entre *A. coriacea* e *A. dioica* em relação aos solventes etanol e metanol (Tabela I).

Na concentração de 50 ppm houve diferença significativa na mortalidade de larvas entre as espécies *A. coriacea* e *A. dioica*. Essa última espécie apresentou os menores valores de mortalidade, sendo de 75,0 e 85,0% nos solventes etanol e metanol, respectivamente. Não houve diferença significativa

entre os solventes para *A. coriacea* e *A. dioica* na concentração de 50 ppm (Tabela I).

Nas concentrações de 10 e 20 ppm de *A. coriacea* houve diferença significativa, entre os dois solventes testados. No entanto, na espécie *A. dioica* para o solvente etanol não houve diferença significativa, sendo a significância observada apenas para o metanol (Tabela I).

Isso demonstra que *A. coriacea* possui uma melhor ação larvicida sobre *A. aegypti*, pois apresentou uma mortalidade de 100% em 50 ppm, independente do solvente utilizado (Tabela I).

O extrato etanólico de *A. coriacea* apresentou atividade larvicida sobre *A. aegypti* nas concentrações 6, 8, 10, 15 e 20 ppm, com mortalidade de 80, 91, 97, 98 e 100% respectivamente, diferindo estatisticamente das concentrações 4 e 2 ppm (Tabela II).

As concentrações letais do extrato etanólico de *A. coriacea* sobre larvas de *A. aegypti* apresentaram CL90 de 7,14 ppm e CL50 de 3,14 ppm, com os respectivos intervalos de confiança (IC) 6,31 – 8,36 ppm e 2,81 – 3,46 ppm.

## DISCUSSÃO

Vários trabalhos tem demonstrado que as Annonaceae possuem ação larvicida sobre *A. aegypti*. Essas plantas apresentam compostos bioativos, principalmente da classe das acetogeninas que são promissoras na obtenção de substâncias com propriedades inseticidas<sup>13</sup>.

O extrato etanólico de *A. coriacea* na concentração de 50 ppm obteve 100% de mortalidade das larvas de *A. aegypti* em 12 horas (Tabela I),

enquanto que em 20 ppm após 24 horas alcançou 100% (Tabela II), demonstrando alta toxicidade em baixas concentrações, quando expostas por mais tempo. Diferente dos resultados encontrados por Bobadilla<sup>5</sup> com *A. muricata*, que obtiveram 100% de mortalidade, somente a 500 ppm e Henao<sup>8</sup> que obtiveram 50% de mortalidade a 900 ppm. Mendonça<sup>11</sup> com *A. glabra* e *A. crassiflora* em 500 ppm obtiveram 100 e 10% de mortalidade, respectivamente, após 48 horas.

Essas diferenças de toxidez das plantas do mesmo gênero sobre as larvas de *A. aegypti*, podem estar relacionadas a diversos fatores, como a diferenciação fitoquímica dos componentes das espécies vegetais<sup>7</sup>; a variação nos teores de princípios ativos<sup>4 5 10</sup>; pois se observa que *A. coriacea* e *A. dioica* são nativas do cerrado e estão frequentemente sob “stress”, podendo produzir muito mais princípios ativos como estratégia de sobrevivência à pressões do ambiente, quando comparado com *A. muricata* que é uma espécie cultivada.

Os valores das concentrações letais observados para o extrato etanólico de *A. coriacea* foram baixos quando comparados com outros autores. Pesquisa com *A. crassiflora* realizado por Lima<sup>9</sup> obteve CL90 106,72 ppm e CL50 33,40 ppm. Monzon<sup>12</sup> com *A. squamosa* encontraram CL90 de 201,5 ppm. Visto que, quanto menor o valor do ppm maior a eficiência do extrato<sup>16</sup>, indicando a alta toxicidade de *A. coriacea* sobre larvas de *A. aegypti*, podendo causar a mortalidade das mesmas com uma quantidade pequena de extrato (Tabela II).

Diante do exposto, o extrato de *A. coriacea* apresentou resultados positivos para ação larvicida sobre *A. aegypti*, podendo auxiliar na busca por

novos compostos naturais com ações mais seletivas e biodegradáveis, no controle do vetor da dengue.

### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem a prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Heloisa Helena Garcia da Silva a técnica Carmeci Natalina Elias do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, pela colaboração nas metodologias de trabalhos.

### **REFERÊNCIAS**

1. Aguilera L, Navarro A, Tacoronte JE, Leyva M, Marquetti MC. Efecto letal de myrtaceas cubanas sobre *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae). Revista Cubana Medicina Tropical 55: 100-104, 2003.
2. Augusto LGS, Câmara Neto HF. O combate químico das pragas domesticas: um problema oculto de saúde pública. In: Augusto LGS, Carneiro RM, Martins PH. Abordagem ecossistêmica em saúde – ensaios para o controle da dengue. Recife, Universitária UFPE, p.199-212, 2005.
3. Barreto CF, Cavasin GM, Silva HHG, Silva IG. Estudo das alterações morfo-histológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) submetidas ao extrato bruto etanólico de *Sapindus saponaria* Lin (Sapindaceae). Revista de Patologia Tropical 35: 37-57, 2006.
4. Bezerra AME, Medeiros Filho S, Oliveira LDM, Silveira ER. Produção e composição química da macela em função da época de colheita. Horticultura Brasileira 26: 026-029, 2008.

5. Bobadilla M, Zavala F, Sisniegas M, Zavaleta G, Mostacero J, Taramona L. Evaluación larvicida de suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus «guanábana» sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae). Revista Peruana de Biología 12: 145-152, 2005.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica, 6º ed., Brasília: Ministério da Saúde, 2005.
7. Goswami NG, Rabha B. Preliminary evaluation of mosquito larvicidal efficacy of plant extracts. Journal of Vector Borne Diseases 44: 145-148, 2007.
8. Henao GJP, Pajón CMG, Torres JMC. Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) vector del dengue en Colombia. Revista CES Medicina 21: 47-54, 2007.
9. Lima MRF. Contribuição para o conhecimento fitoquímico e da atividade biológica de *Annona crassiflora* Mart. e *Schinus terebinthifolius* Raddi. Tese Doutorado, Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2005.
10. Macedo ME, Consoli AGBR, Grandi TSM, Anjos AMG, Oliveira AB, Mendes NM, Queiróz RO, Zani CL. Screening of Asteraceae (Compositae) plant extracts for larvicidal activity against *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 92: 565-570, 1997.
11. Mendonça FAC, Silva KFS, Santos KK, Ribeiro Júnior KAL, Sant'ana AEG. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. Fitoterapia 76: 629-636, 2005.
12. Monzon RB, Alviór JP, Luczon LLC, Morales AS, Mutuc FES. Larvicidal potential of five Philippine plants against *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Culex*

*quinquefasciatus* (Say). Southeast Asian Journal of Tropical Medicine Public Health 25: 755-759, 1994.

13. Nascimento FC, Boaventura MAD, Assunção ACS, Pimenta LPS. Acetogeninas de anonáceas isoladas de folhas de *Rollinia laurifolia*. Química Nova 26: 319-322, 2003.

14. Santos SL. Avaliação das ações de controle da dengue: aspectos críticos e percepção da população. Dissertação Mestrado, Departamento de Saúde Coletiva, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2003.

15. Silva HHG, Silva IG, Lira KS. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em laboratório. Revista de Patologia Tropical 27: 51-63, 1998.

16. Silva HHG, Silva IG, Santos RMG, Rodrigues Filho E, Elias CN. Atividade larvicida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 37: 396-399, 2004.

17. Teixeira KRP, Brito JR, Oliveira LMF, Costa LF, Oliveira AM, Fonseca CA. Incidência do vírus da dengue na região metropolitana de Goiânia. Revista Eletrônica de Farmácia 3: 53-55, 2006.

18. World Health Organization - Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2005.

**Tabela I** - Efeito das concentrações de extrato bruto etanólico e metanólico de *Annona dioica*, *Annona coriacea* e *Xylopiia aromatica* sobre mortalidade em larvas de 3º estágio de *Aedes aegypti* após 12 horas de exposição ( $p < 0,05$ ).

Concentração (ppm)	Mortalidade de larvas (%)					
	<i>Annona coriacea</i>		<i>Annona dioica</i>		<i>Xylopiia aromatica</i>	
	<i>Etanol</i>	<i>Metanol</i>	<i>Etanol</i>	<i>Metanol</i>	<i>Etanol</i>	<i>Metanol</i>
0	0,0 Da	0,00 Da	0,0 Da	0,00 Da	0,0 Aa	0 Aa
10	56,6 Ca	61,6 Ca	56,6 Ca	16,6 Cb	0,0 Ab	0 Ac
20	85,0 Ba	75,0 Ba	51,6 Cb	50,0 Bb	0,0 Ac	0 Ac
50	100,0 Aa	100,0 Aa	75,0 Bb	85,0 Ab	0,0 Ac	0 Ac
80	100,0 Aa	100,0 Aa	90,0 Aa	93,3 Aa	1,6 Ab	0 Ab
100	100,0 Aa	100,0 Aa	90,0 Aa	95,0 Aa	0,0 Ab	0 Ab

Obs.: As médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não apresentam diferença significativa entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

**Tabela II** – Percentagens de mortalidade de larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti* em diferentes concentrações do extrato de *Annona coriacea*, em 24 horas de exposição ( $p < 0,05$ ).

Concentração (ppm)	Mortalidade de larvas (%)
0	1 d
2	25 c
4	58 b
6	80 a
8	91 a
10	97 a
15	98 a
20	100 a

Obs.: As médias seguidas da mesma letra não apresentam diferença significativa entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

## ANEXO

### **Normas para Publicação: Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**

A Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical destina-se à publicação de trabalhos científicos relacionados às doenças infecciosas e parasitárias, medicina preventiva, saúde pública e assuntos correlatos.

A revista tem periodicidade bimestral e aceitará trabalhos de pesquisadores brasileiros ou estrangeiros desde que obedeçam às normas e que sejam aprovados pelos relatores indicados pelos Editores.

1. Além de Artigos, a revista publica Comunicações para a divulgação de resultados de ensaios terapêuticos, notas prévias, relatórios técnicos, relatos de casos, cartas ao editor, fatos históricos, resenhas bibliográficas e resumos de teses. Artigos de revisão e editoriais serão publicados por solicitação do Corpo Editorial.

2. Os trabalhos devem ser originais e inéditos, digitados em espaço duplo, deixando margem de 3 cm à esquerda e remetidos em três vias ao endereço abaixo, sendo uma a original. Após revisão, pede-se que os trabalhos sejam enviados em disquete, devidamente acompanhados de uma cópia impressa da versão revisada.

3. Normas para enviar trabalhos, após revisão, em meio eletrônico; obedecer os seguintes requisitos:

a) podem ser utilizados disquetes MS-DOS compatíveis nos formatos 3 1/2" ou 5 1/4". Disquetes de Macintosh no formato 3 1/2" também serão aceitos. Elimine dos disquetes todos os arquivos não pertinentes ao artigo enviado. Escreva na etiqueta do disquete: título do artigo, nome do autor, nome do arquivo, editor de texto utilizado e nome dos arquivos acessórios (folhas de estilos, gráficos, tabelas etc);

b) envie artigos compatíveis com os seguintes processadores de texto: Word para Windows (versão 6.0 ou anterior), Word para Mac (versão 6.0 ou anterior), outros formatos podem ser aceitos mediante consulta prévia. Nunca envie artigos em formato ASCII (só texto/"text only");

c) ao redigir o texto, o comando de retorno de linha ("Enter") deve ser utilizado exclusivamente no final dos parágrafos. Não adicione espaços extras ou "tabs" ao texto para obter recuo da primeira linha ou centralização de títulos na página. Tampouco retornos ("enters") adicionais para espaçar os parágrafos. Para obter esses efeitos, utilize apenas os comandos de formatação de parágrafo, disponíveis em todos os editores de texto acima;

d) podem ser incluídas tabelas, desde que montadas no próprio editor de texto. Observações e notas de rodapé devem ser, preferencialmente, colocadas após o final do artigo, devidamente numeradas e referenciadas;

e) ilustrações, tabelas e gráficos produzidos em outros programas e "importados" para inclusão no texto devem ser enviados em arquivos anexos, em formatos universais de fácil compatibilidade (TIFF, BMP, PICT, GIF etc). Evite formatos não-padronizados (EPS, WMF etc) e arquivos que só podem ser

abertos por programas específicos. De qualquer forma, envie sempre uma cópia bem impressa do gráfico, tabela ou ilustração para eventual reprodução.

4. Os trabalhos devem ser redigidos preferencialmente em português, embora sejam também aceitos trabalhos em inglês e espanhol. A linguagem deve ser clara e precisa, e o texto conciso normalmente não ultrapassando 12 páginas digitadas para Artigos e 6 para Comunicações.

5. A seguinte seqüência deve ser observada:

a) título original e traduzido e nome dos autores em letras minúsculas. No rodapé, instituição onde foi realizado o trabalho, filiação dos autores, quando for o caso, órgão financiador e o endereço completo para correspondência, inclusive telefone, fax e e-mail;

b) resumo: máximo de 150 palavras para os artigos e 50 para as comunicações e relatos de casos. Deve ser informativo e não indicativo, apresentando o objetivo do trabalho, como foi realizado, os resultados alcançados e a conclusão. Não usar abreviaturas ou citações bibliográficas. Citar 4 ou 5 palavras-chave, que expressem com precisão o conteúdo do trabalho;

c) *abstract*: inserido logo após o resumo, deve ser a tradução fiel do mesmo, seguido pelas key-words;

d) introdução: clara, objetiva, contendo informações que justifiquem o trabalho, restringindo as citações ao necessário;

e) material e métodos: descrição concisa, sem omitir o essencial para a compreensão e reprodução do trabalho. Métodos e técnicas já estabelecidos devem ser referidos por citação;

f) resultados: sempre que necessário devem ser acompanhados por tabelas, figuras ou outras ilustrações, auto-explicativas. Texto e documentação devem ser complementares. Quando aplicáveis, os dados deverão ser submetidos à análise estatística. O conteúdo deve ser informativo, não interpretativo;

g) discussão: limitar aos resultados obtidos e conter somente as referências necessárias. O conteúdo deve ser interpretativo e as hipóteses e especulações formuladas com base nos achados;

h) agradecimentos: limitados ao indispensável;

i) referências bibliográficas: digitadas em minúsculas, sem ponto entre as abreviaturas, em espaço duplo, numeradas e organizadas em ordem alfabética pelo último sobrenome do autor; citar todos os autores de cada referência. Quando houver mais de uma citação do mesmo autor, seguir a ordem cronológica. As citações devem ser referidas no texto pelos respectivos números, acima da palavra correspondente, sem vírgula e sem parênteses; na lista de referências, deve seguir o seguinte estilo e pontuação:

Artigos em periódicos (os títulos dos periódicos devem aparecer por extenso):

Coura JR, Conceição MJ. Estudo comparativo dos métodos de Lutz, Kato e Simões Baarbosa no diagnóstico da esquistossomose mansoni. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 8:153-158, 1974.

Livros:

Chandra RK, Newberne PM. Nutrition, immunity and infection: mechanisms of interactions. Plenum, New York, 1977.

Capítulos de livros:

Fulton JD. Diagnosis of protozoal diseases. In: Gell PGH, Coombs RRA (ed) Clinical aspects of immunology, 2nd edition, Blackwell, Oxford, p.133-136, 1968.

Resumos de congressos:

Daher RH, Almeida Netto JC, Pereira LIA. Disfunção hepática na malária grave. Estudo de 161 casos. In: Resumos do XXXI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Brasília p.16, 1995.

Teses:

Tavares W. Contaminação do solo do Estado do Rio de Janeiro pelo *Clostridium tetani*. Contribuição ao conhecimento da distribuição natural do bacilo tetânico. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 1975.

Somente deverão ser citados os trabalhos publicados. Dados não publicados ou comunicações pessoais devem ser referidos no texto da seguinte forma: (AB Figueiredo: comunicação pessoal, 1980) e (CD Dias, EF Oliveira: dados não publicados).

6. Tabelas: numeradas em algarismos arábicos e dotadas de título descritivo conciso. Manter seu número ao mínimo necessário e lembrar que tabelas muito grandes são difíceis de serem lidas. Devem ser digitadas em espaço duplo em folhas separadas, sem linhas verticais e as unidades referidas no título de cada coluna. Todos os dados das tabelas, inclusive o título, devem ser em minúsculas, exceto as siglas.

7. Ilustrações: de boa qualidade e numeradas consecutivamente em algarismos arábicos. Além das fotografias, os gráficos, quadros etc. devem ser referidos no texto como Figuras. Anotar no verso com lápis o número da figura e o nome do autor e trabalho. Listar as legendas numeradas com os respectivos símbolos e convenções em folha separada e em espaço duplo. O número de ilustrações deve ser restrito ao mínimo necessário.

8. Comitê de ética: no trabalho de pesquisa envolvendo seres humanos, deverá constar o nome do Comitê de Ética que o aprovou.

9. Permissão dos autores: anexar carta com o ciente de todos os autores concordando com a publicação.

## **II. Avaliação da atividade de *Annona coriacea* sobre pupas e adultos de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae).**

[Preparado de acordo com as normas de Cadernos de Saúde Pública]

### **Evaluation of *Annona coriacea* activity on pupae and adults of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae).**

**Josdemar Muniz de Moraes<sup>1</sup>, Mônica Josene Barbosa Pereira<sup>2</sup>  
Carla Galbiati<sup>2</sup> e Elaine Maria Loureiro<sup>3</sup>**

#### **ABSTRACT**

*The goal of this research was determine the activity of ethanolic extract of Annona coriacea, on pupae and adults of Aedes aegypti. For the test against pupae we did use 10 pupae, at concentrations 50, 100, 200, 300, 400 e 500 ppm, in 25 mL of the test solution with four replicates for 48 hours of exposition. For the test against adults, 20 females were exposed on filter paper treated with 2 mL at concentrations of 1000, 2000, 4000, 6000, 8000, 10000 ppm. We made three replicates and the mortality was evaluated after 24 hours. The extract of A. coriacea showed lethal activity against pupae with 62.5% of mortality at concentration of 500 ppm. After emergence, the mortality of adults was 91.6% at concentration of 500 ppm. The extract did not show lethal action against adults of A. aegypti. The results show that the lethal action of A. coriacea extract on A. aegypti can become available future research for the control of dengue vector.*

*Annonaceae; pupae; adult; dengue*

---

<sup>1</sup> Vigilância em Saúde, Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso, Mato Grosso, MT.

<sup>2</sup> Mestrado em Ciências Ambientais, Universidade do Estado de Mato Grosso, Cáceres, MT.

<sup>3</sup> Programa CETApis – Arranjo Produtivo Local em Apicultura da Região Sudoeste do Mato Grosso, Universidade do Estado de Mato Grosso, Cáceres, MT.

#### **Correspondência**

M. J. B. Pereira - Universidade do Estado de Mato Grosso, Rodovia MT 358, Km 7, Caixa Postal: 287, Tangará da Serra- MT, CEP 78300-000, Brasil    monica@unemat.br    mjosene@hotmail.com

## **Introdução**

A dengue é uma doença infecciosa, de origem viral, transmitida pelo homem por meio de picada de fêmeas do mosquito contaminado do gênero *Aedes*, sendo o *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) o principal vetor da dengue nas Américas <sup>1</sup>.

A Saúde Pública utiliza grande quantidade de inseticidas sintéticos piretróides e organofosforados no controle do *A. aegypti*. A pressão imposta pela aplicação desses produtos tem aumentado a contaminação ambiental, afetando os ecossistemas e a saúde humana <sup>2</sup>. Além disso, favorecem a seleção de população de mosquitos resistentes aos inseticidas <sup>3</sup>, conforme registrado no Rio de Janeiro, Sergipe e Alagoas <sup>4</sup>, no Distrito Federal <sup>5</sup> e em São Paulo <sup>6</sup>.

Trabalhos recentes tem destacado pesquisas com inseticidas botânicos, microbianos, reguladores de crescimento, bem como a combinação entre estes diferentes métodos de controle em programas de manejo integrado do vetor da dengue.

Diversas pesquisas tem demonstrado a eficácia de extratos de plantas sobre as diferentes fases de desenvolvimento de *A. aegypti*, Murugan <sup>7</sup> demonstraram a ação pupicida sobre *A. aegypti* com *Albizzia amara* (Boivin, 1834) e *Ocimum basilicum* (L., 1753). A atividade adulticida sobre *A. aegypti* foi estudada por Hidayatulfathi <sup>8</sup> com *Acorus calamus* (L., 1753), *Litsea elliptica* (Blume, 1825) e *Piper aduncum* (L., 1753), por Choochote <sup>9</sup> com *Piper sarmentosum* (Roxb., 1820), *Piper ribesioides* (Wall, 1953) e *Piper longum* (L., 1753), por Chaiyasit <sup>10</sup> com *Apium graveolens* (L., 1753), *Carum carvi* (L., 1753), *Curcuma zedoaria* (Roscoe, 1807), *Piper longum* e *Illicium verum* (Hook. F., 1888) e por DUA <sup>11</sup> com *Valeriana jatamansi* (Jones, 1790).

Existem poucos trabalhos que testam a ação pupicida e adulticida com extratos de Annonaceae no controle do *A. aegypti*. Assim sendo, este estudo teve por objetivo verificar a atividade de *Annona coriacea* (Mart., 1841), sobre pupas e adultos de *A. aegypti* em condições de laboratório.

## **Materiais e Métodos**

### **Preparação dos extratos**

Foram coletados frutos maduros da *A. coriacea* em áreas de cerrado Mato-grossense no município de Tangará da Serra-MT. Esses foram processados no Laboratório de

Química da Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT - Campus Tangará da Serra.

As sementes foram levadas à estufa de ventilação forçada à temperatura de 40°C, até a estabilização da massa da matéria seca, e em seguida, moída em moinho elétrico de facas até atingirem baixa granulometria. Em 500g do pó foram adicionados a 1.500 mL de solvente etanol e, por percolação permaneceu durante 72 horas a temperatura ambiente. A suspensão foi filtrada em funil Büchner. O solvente foi evaporado no evaporador rotativo a vácuo (rotavapor) para que desta forma obtivesse o extrato bruto etanólico de *A. coriacea*.

### **Colônia de Mosquito *Aedes aegypti***

A criação do *A. aegypti* originou-se de ovos doados pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – IPTSP, da Universidade Federal de Goiás – UFG. As larvas para os bioensaios foram criadas no laboratório de Entomologia da UNEMAT, Campus Cáceres-MT. A metodologia de criação de *A. aegypti* foi realizada de acordo com de Silva <sup>12</sup>, com algumas modificações.

Os adultos foram mantidos numa gaiola de criação, no laboratório de entomologia, contendo em seu interior um chumaço de algodão, embebido em solução açucarada a 10%. As fêmeas foram alimentadas com camundongos presos numa tela, em dias alternados durante 6 horas. No interior da gaiola de criação, colocou-se papel filtro em forma de cone, para postura, sendo este trocado diariamente.

Para obtenção das larvas, o papel filtro contendo ovos foi colocado em um recipiente plástico com água. Após a eclosão, as larvas foram alimentadas com ração para gatos, previamente triturada, até a fase de pupa. Estas foram colocadas em copos tipo âmbar coberto com tecido organza até a emergência dos adultos, que em seguida foram transferidos para a gaiola de criação. As fases de ovo, larva e pupa do mosquito, foram desenvolvidas no interior de câmara climatizada a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $80 \pm 5\%$  e fotofase de 12 horas.

Os bioensaios foram conduzidos no laboratório de entomologia, nas condições de temperatura de  $28,5 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $60 \pm 10\%$  e de fotofase de 12 horas.

### **Bioensaios**

Os testes foram realizados de acordo com a metodologia da Organização Mundial da Saúde<sup>13,14</sup> com adequações para pupas e adultos. Para os bioensaios preparou-se uma solução-mãe solubilizada em 0,2% de dimetilsulfóxido (DMSO), dissolvida em água que foi fracionada nas concentrações e quantidade de interesse.

Para o teste pupicida as concentrações foram de 50, 100, 200, 300, 400 e 500 ppm. Usaram-se copos descartáveis de polietileno (50 mL) com 25 mL da solução teste. Foram utilizadas 10 pupas, para cada tratamento, nas diferentes concentrações, com no máximo 24 horas de idade. Esses copos foram fixados no fundo de potes de polietileno (500 mL), para avaliar a emergência de adultos. O bioensaio foi realizado em quadruplicada e avaliado 48 horas após o início.

Para o teste adulticida foram utilizadas 20 fêmeas, não alimentadas com sangue, com 2 a 5 dias de idade que foram expostas a papel filtro (12 x 15 cm<sup>2</sup>) tratados com 2 mL das concentrações de 1000, 2000, 4000, 6000, 8000, 10000 ppm. O papel filtro ficou durante 24 horas em temperatura ambiente para secagem. O bioensaio foi realizado em triplicata e a mortalidade foi avaliada após 24 horas.

Nos grupos controles dos bioensaios para pupa e adulto utilizou-se DMSO como solubilizante.

### **Análise estatística**

Para os bioensaios utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, sendo a avaliação da mortalidade sob efeito da concentração dos extratos, submetida à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%. Para as análises foi utilizado o SAEG (Programa Sistema de Análises Estatísticas).

### **Resultados**

O processo de extração de *A. coriacea* com etanol resultou em 51,5 g de extrato bruto.

A mortalidade de pupa de *A. aegypti* apresentou diferença significativa entre as concentrações de *A. coriacea* testadas após 48 horas de exposição ( $p < 0,05$ ). A ação pupicida foi mais evidente nas maiores concentrações, apresentando mortalidade de 45,0% e 62,5% em 400 e 500 ppm, respectivamente. As concentrações abaixo de 300 ppm não interferiram na mortalidade de pupas, pois não diferiram do controle (Tabela 1).

Ao verificar a emergência de adultos de *A. aegypti*, a partir das pupas testadas, observou-se que houve diferença significativa na mortalidade destes em todas as concentrações de *A. coriacea*, em relação ao controle, apresentando 42,7% a 91,6% de mortalidade nas concentrações de 50 a 500 ppm. Observou-se também que os adultos foram mais susceptíveis a ação do extrato em relação às pupas, pois na menor concentração testada 50 ppm a mortalidade de pupa foi 7,5%, enquanto a de adulto foi de 42,7% (Tabela 1).

Na Tabela 1, verifica-se que nas concentrações de 50, 100, 200 e 300 ppm a mortalidade de pupa foi inferior a 25% e, conseqüentemente mais de 75% das pupas passaram para a fase adulta, enquanto que nessas concentrações a mortalidade de adulto foi de 42,7, 64,1, 78,5 e 71,1% respectivamente.

Nas concentrações de 400 e 500 ppm a mortalidade de pupas foi de 45,0 e 62,5%, enquanto a mortalidade de adulto foi 85,0 e 91,6% respectivamente (Tabela 1), não diferindo entre si. Isso mostrou que 92,3% dos adultos morreram logo após a emergência, pois a maioria não conseguia voar para fora do recipiente com extrato, enquanto 4,6% dos adultos morreram presos a exúvia e apenas 3% morreram fora do recipiente com a concentração, reduzindo desta forma, as chances de haver proliferação do mosquito.

A mortalidade de adultos recém-emergidos pode estar relacionada com a ação de contato com o extrato de *A. coriacea*, presente na solução-teste, sob o mosquito adulto

O extrato de *A. coriacea* não apresentou atividade adulticida sobre *A. aegypti* nas diferentes concentrações testadas (Tabela 2), pois na maior concentração (10000 ppm) a mortalidade foi de apenas 6,6%, enquanto nas demais concentrações foi inferior a 5%, indicando que não houve diferença estatística na mortalidade em relação ao controle ( $p < 0,05$ ).

## **Discussão**

Atualmente são apresentadas várias pesquisas com extratos de plantas para o controle de *A. aegypti*, principalmente com ação larvicida. Novas pesquisas estão sendo desenvolvidas para avaliar o efeito destes extratos sobre as fases de pupa e adulto do mosquito.

A ação pupicida do extrato de *A. coriacea* sobre pupas de *A. aegypti* foi observada nas maiores concentrações, provavelmente isso se deve ao fato das pupas

estarem protegidas pela última exúvia larval, dificultando a ação do extrato. Esta barreira possivelmente seria rompida com a utilização de altas concentrações do extrato, como foi observado nas pesquisas desenvolvidas por Murugan <sup>7</sup> com extratos de *Albizzia amara* e *Ocimum basilicum* que obtiveram ação pupicida nas concentrações de 20.000 a 100.000 ppm.

Trabalhos com atividade pupicida com outros culicídeos são apresentados por Macchioni <sup>15</sup> com *Codonopsis javanica* (Hook F; Thoms, 1855) sobre *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) com 75% de mortalidade de pupas na concentração de 60.000 ppm. Nathan <sup>16</sup> com extratos de folhas e sementes de *Melia azedarach* (L., 1753) sobre *A. stephensi* alcançaram respectivamente 92,3% e 90,9% de mortalidade em 20.000 ppm. Nathan <sup>17</sup> testou *Eucalyptus tereticornis* (Sm., 1795) sobre *Anopheles stephensi* (Liston, 1901) e constatou que a 160 ppm matou 88% das pupas.

Verificou-se que a mortalidade de adultos recém-emergidos foi alta nas concentrações de 400 e 500 ppm (Tabela I). Sharma <sup>18</sup> observaram que, a mortalidade de adultos de *Anopheles stephensi* emergidos foi maior em altas concentrações de *Azadirachta indica* A. Jussieu.

No bioensaio adulticida as concentrações utilizadas do extrato de *A. coriacea* não apresentaram mortalidade significativa sobre *A. aegypti* (Tabela II). Hidayatulfathi <sup>8</sup>, obtiveram resultados de ação adulticida sobre *A. aegypti* com as espécies *Acorus calamus*, *Litsea elliptica* e *Piper aduncum* com concentrações de até 50.000 ppm, enquanto Dua <sup>11</sup> com *Valeriana jatamansi* em 100.000 ppm.

Numa comparação geral, envolvendo os bioensaios, pode-se observar que o extrato de *A. coriacea* demonstrou sobre o *A. aegypti* efeito na mortalidade de pupas e adultos recém-emergidos (Tabela I), porém não observou o mesmo para adulto (Tabela II). Aguilera <sup>19</sup> e Luna <sup>6</sup> verificaram que o efeito do extrato sobre as diferentes fases de desenvolvimento do mosquito pode estar relacionado com a tolerância da fase biológica do *A. aegypti*, ao mecanismos de ação do extrato, além dos métodos e das concentrações utilizadas.

## Conclusão

Diante do exposto verificou-se que o extrato da *A. coriacea* apresenta atividade pupicida sobre *A. aegypti*, sendo expressiva a mortalidade de adultos logo após a emergência. Nesse sentido, pesquisas devem ser desenvolvidas para verificar o efeito

residual deste extrato na água, uma vez que, uma única aplicação na fase de larva poderá controlar o vetor nas demais fases de desenvolvimento.

O extrato de *A. coriacea* não apresenta atividade adulticida sobre *A. aegypti*, todavia, novas pesquisas precisam ser desenvolvidas com concentrações mais elevadas e outras abordagens metodológica como a aplicação tópica do extrato.

## **Resumo**

*Objetivou-se por meio deste estudo verificar a atividade do extrato etanólico de Annona coriacea, sobre pupas e adultos de Aedes aegypti. Para o teste pupicida foram utilizadas 10 pupas, nas concentrações 50, 100, 200, 300, 400 e 500 ppm, em 25 mL da solução-teste em quatro réplicas, por 48 horas de exposição. Para o teste adulticida 20 fêmeas foram expostas a papel filtro tratado com 2 mL das concentrações de 1000, 2000, 4000, 6000, 8000, 10000 ppm. Foram realizadas três replicas e a mortalidade foi avaliada após 24 horas. O extrato de A. coriacea apresentou atividade pupicida com 62,5% de mortalidade na concentração de 500 ppm, e após a emergência da pupa, a mortalidade de adultos foi de 91,6% na mesma concentração. O extrato não apresentou ação adulticida sobre A. aegypti. Diante dos resultados, a ação pupicida do extrato de A. coriacea sobre A. aegypti poderá viabilizar novas pesquisas para o controle do mosquito transmissor da dengue.*

*Annonaceae; pupa; adulto; dengue*

## **Colaboradores**

J. M. Moraes e M. J. B. Pereira realizaram os fracionamentos, os bioensaios, o estudo estatístico, a redação e revisão do artigo. E. M. Loureiro realizou o fracionamento das concentrações. C. Galbiati relevante auxílio nas correções estatísticas e revisou o artigo.

## **Agradecimentos**

Os autores agradecem a prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Heloisa Helena Garcia da Silva a técnica Carmeci Natalina Elias do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, pela colaboração nas metodologias de trabalhos.

## Referências

1. Fundação Nacional de Saúde, Ministério da Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. Brasília: Ministério da Saúde; 2005.
2. Aguilera L, Navarro A, Tacoronte JE, Leyva M, Marquetti MC. Efecto letal de myrtaceas cubanas sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Revista Cubana Medicina Tropical 2003; 55:100-4.
3. Glasser CM, Donalísio MR. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. Revista Brasileira de Epidemiologia 2002; 5:259-72.
4. Braga IA, Lima JBP, Soares SS, Valle D. *Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. Memoria Instituto Oswaldo Cruz 2004; 99:199-203.
5. Carvalho MSL, Caldas ED, Degallier N, Vilarinhos, PTR, Souza LCKR, Yoshizawa MAC, Knox, MB, Oliveira C. Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. Revista de Saúde Pública 2004; 38:623-9.
6. Luna JED, Martins MF, Anjos AF, Kuwabara EF, Navarro MAS. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temephos e cipermetrina, Brasil. Revista de Saúde Publica 2004; 38:824-3.
7. Murugan K, Murugan P, Noortheen A. Larvicidal and repellent potential of *Albizzia amara* Boivin and *Ocimum basilicum* Linn against dengue vector, *Aedes aegypti* (Insecta:Diptera:Culicidae). Bioresource Technology 2007; 98:198–201.
8. Hidayatulfathi O, Sallehuddin S, Ibrahim J. Adulticidal activity of some Malalysian plant extracts against *Aedes aegypti* Linnaeus. Trop Biomed 2004; 21:61-7.
9. Choochote W, Chaithong U, Kamsuk K, Rattanachanpichai E Jitpakdi A, Tippawangkosol P, Chaiyasit D, Champakaew D, Tuetun B, Pitasawat B. Adulticidal activity against *Stegomyia aegypti* (Diptera: Culicidae) of three Piper spp. Revista do Instituto de Medicina Tropical 2006; 48:33-7.
10. Chaiyasit D, Choochote W, Rattanachanpichai E, Chaithong U, Chaiwong P, Jitpakdi A, Tippawangkosol P, Riyong D, Pitasawat B. Essential oils as potential adulticides against two populations of *Aedes aegypti*, the laboratory and natural

- field strains, in Chiang Mai province, northern Thailand. *Parasitol Res* 2006; 99:715–721.
11. Dua VK, Alam MF, Pandey AC, Rai S, Chopra AK, Kaul VK, Dash AP. Insecticidal activity of *Valeriana jatamansi* (valerianaceae) against mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association* 2008; 24:315–8.
  12. Silva HHG, Silva IG, Lira KS. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus,1762) em laboratório. *Revista de Patologia Tropical* 1998; 27:51-63.
  13. World Health Organization. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. Geneva: World Health Organization; 2005.
  14. World Health Organization. Guidelines for testing mosquito adulticides for indoor residual spraying and treatment of mosquito nets control of neglected tropical diseases who pesticide evaluation scheme. Geneva: World Health Organization; 2006.
  15. Macchioni F, Carugini S, Cecchi F, Siciliano T, Braca A, Cioni P, Morelli I. Aqueous extract of *Codonopsis javanica* against larval and pupal stages of *Aedes albopictus*. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinária* 2004; 57:215-20.
  16. Nathan SS, Savitha G, George DK, Narmadha A, Suganya L, Chung PG. Efficacy of *Melia azedarach* L. extract on the malarial vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Bioresource Technology* 2006; 97:1316–23.
  17. Nathan SS. The use of *Eucalyptus tereticornis* Sm. (Myrtaceae) oil (leaf extract) as a natural larvicidal agent against the malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Bioresource Technology* 2007; 98:1856–60.
  18. Shamia P, Mohan L, Srivastava CN, Impact analysis of Neem kernel extracts on the developmental profile of *Anopheles stephensi*. *Journal Ásia-Pacific Entomology* 2006; 9:11-7.
  19. Augusto LGS, Câmara Neto HF. O combate químico das pragas domesticas: um problema oculto de saúde pública, p.199-212. In: Augusto LGS, Carneiro RM, Martins PH. *Abordagem ecossistêmica em saúde – ensaios para o controle da dengue*. Universitária UFPE, 2005, 382 p.

Tabela 1 - Efeito das concentrações de extrato bruto etanólico de *Annona coriacea* sobre mortalidade em pupas de *Aedes aegypti* em 48 horas de exposição ( $p < 0,05$ ).

Concentração (ppm)	Mortalidade de pupas (%)	Mortalidade de adulto (%)
0	0,0 c	5,0 c
50	7,5 c	42,7 b
100	7,5 c	64,1 ab
200	10,0 c	78,5 ab
300	22,5 bc	71,1 ab
400	45,0 ab	85,0 a
500	62,5 a	91,6 a

Obs.: Médias seguidas de mesma letra na coluna não apresentam diferença significativa entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2 - Efeito das concentrações de extrato bruto etanólico de *Annona coriacea* sobre mortalidade de fêmeas de *Aedes aegypti* em 24 horas de exposição.

Concentração (ppm)	Mortalidade de Adulto (%)
0	0 a
1000	0 a
2000	0 a
4000	1,6 a
6000	3,3 a
8000	5,0 a
10000	6,6 a

Obs.: As médias seguidas da mesma letra não apresentam diferença significativa entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

## Anexo

### **Normas para Publicação: Cadernos de Saúde Pública**

Recomendamos aos autores a leitura atenta das instruções abaixo antes de submeterem seus artigos a **Cadernos de Saúde Pública**.

#### **1. CSP aceita trabalhos para as seguintes seções:**

**1.1 Revisão** – revisão crítica da literatura sobre temas pertinentes à saúde pública (máximo de 8.000 palavras e 5 ilustrações);

**1.2 Artigos** – resultado de pesquisa de natureza empírica, experimental ou conceitual (máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações);

**1.3 Notas** – nota prévia, relatando resultados parciais ou preliminares de pesquisa (máximo de 1.700 palavras e 3 ilustrações);

**1.4 Resenhas** – resenha crítica de livro relacionado ao campo temático de CSP, publicado nos últimos dois anos (máximo de 1.200 palavras);

**1.5 Cartas** – crítica a artigo publicado em fascículo anterior de CSP (máximo de 1.200 palavras e 1 ilustração);

**1.6 Debate** – artigo teórico que se faz acompanhar de cartas críticas assinadas por autores de diferentes instituições, convidados pelo Editor, seguidas de resposta do autor do artigo principal (máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações);

**1.7 Fórum** – seção destinada à publicação de 2 a 3 artigos coordenados entre si, de diferentes autores, e versando sobre tema de interesse atual (máximo de 12.000 palavras no total). Os interessados em submeter trabalhos para essa seção devem consultar o Conselho Editorial.

#### **2. Normas para envio de artigos**

**2.1** CSP publica somente artigos inéditos e originais, e que não estejam em avaliação em nenhum outro periódico simultaneamente. Os autores devem declarar essas condições no processo de submissão. Caso seja identificada a publicação ou submissão simultânea em outro periódico o artigo será desconsiderado. A submissão simultânea de um artigo científico a mais de um periódico constitui grave falta de ética do autor.

**2.2** Serão aceitas contribuições em português, espanhol ou inglês.

**2.3** Notas de rodapé e anexos não serão aceitos.

**2.4** A contagem de palavras inclui o corpo do texto e as referências bibliográficas, conforme item 12.13.

### **3. Publicação de ensaios clínicos**

**3.1** Artigos que apresentem resultados parciais ou integrais de ensaios clínicos devem obrigatoriamente ser acompanhados do número e entidade de registro do ensaio clínico.

**3.2** Essa exigência está de acordo com a recomendação da BIREME/OPAS/OMS sobre o Registro de Ensaios Clínicos a serem publicados a partir de orientações da Organização Mundial da Saúde - OMS, do International Committee of Medical Journal Editors ([www.icmje.org](http://www.icmje.org)) e do Workshop ICTPR.

**3.3** As entidades que registram ensaios clínicos segundo os critérios do ICMJE são:

- a) [Australian New Zealand Clinical Trials Registry \(ANZCTR\)](#)
- b) [ClinicalTrials.gov](#)
- c) [International Standard Randomised Controlled Trial Number \(ISRCTN\)](#)
- d) [Nederlands Trial Register \(NTR\)](#)
- e) [UMIN Clinical Trials Registry \(UMIN-CTR\)](#)
- f) [WHO International Clinical Trials Registry Platform \(ICTRP\)](#)

### **4. Fontes de financiamento**

**4.1** Os autores devem declarar todas as fontes de financiamento ou suporte, institucional ou privado, para a realização do estudo.

**4.2** Fornecedores de materiais ou equipamentos, gratuitos ou com descontos, também devem ser descritos como fontes de financiamento, incluindo a origem (cidade, estado e país).

**4.3** No caso de estudos realizados sem recursos financeiros institucionais e/ou privados, os autores devem declarar que a pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

### **5. Conflito de interesses**

**5.1** Os autores devem informar qualquer potencial conflito de interesse, incluindo interesses políticos e/ou financeiros associados a patentes ou propriedade, provisão de materiais e/ou insumos e equipamentos utilizados no estudo pelos fabricantes.

## 6. Colaboradores

**6.1** Devem ser especificadas quais foram as contribuições individuais de cada autor na elaboração do artigo.

**6.2** Lembramos que os critérios de autoria devem basear-se nas deliberações do International Committee of Medical Journal Editors, que determina o seguinte: o reconhecimento da autoria deve estar baseado em contribuição substancial relacionada aos seguintes aspectos: 1. Concepção e projeto ou análise e interpretação dos dados; 2. Redação do artigo ou revisão crítica relevante do conteúdo intelectual; 3. Aprovação final da versão a ser publicada. Essas três condições devem ser integralmente atendidas.

## 7. Agradecimentos

**7.1** Possíveis menções em agradecimentos incluem instituições que de alguma forma possibilitaram a realização da pesquisa e/ou pessoas que colaboraram com o estudo mas que não preencheram os critérios para serem co-autores.

## 8. Referências

**8.1** As referências devem ser numeradas de forma consecutiva de acordo com a ordem em que forem sendo citadas no texto. Devem ser identificadas por números arábicos sobrescritos (Ex.: Silva <sup>1</sup>). As referências citadas somente em tabelas e figuras devem ser numeradas a partir do número da última referência citada no texto. As referências citadas deverão ser listadas ao final do artigo, em ordem numérica, seguindo as normas gerais dos Requisitos Uniformes para Manuscritos Apresentados a Periódicos Biomédicos (<http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine/>).

**8.2** Todas as referências devem ser apresentadas de modo correto e completo. A veracidade das informações contidas na lista de referências é de responsabilidade do(s) autor(es).

**8.3** No caso de usar algum *software* de gerenciamento de referências bibliográficas (Ex. EndNote ®), o(s) autor(es) deverá(ão) converter as referências para texto.

## 9. Nomenclatura

**9.1** Devem ser observadas as regras de nomenclatura zoológica e botânica, assim como abreviaturas e convenções adotadas em disciplinas especializadas.

## **10. Ética em pesquisas envolvendo seres humanos**

**10.1** A publicação de artigos que trazem resultados de pesquisas envolvendo seres humanos está condicionada ao cumprimento dos princípios éticos contidos na Declaração de Helsinki (1964, reformulada em 1975, 1983, 1989, 1996 e 2000), da World Medical Association.

**10.2** Além disso, deve ser observado o atendimento a legislações específicas (quando houver) do país no qual a pesquisa foi realizada.

**10.3** Artigos que apresentem resultados de pesquisas envolvendo seres humanos deverão conter uma clara afirmação deste cumprimento (tal afirmação deverá constituir o último parágrafo da seção Metodologia do artigo).

**10.4** Após a aceitação do trabalho para publicação, todos os autores deverão assinar um formulário, a ser fornecido pela Secretaria Editorial de CSP, indicando o cumprimento integral de princípios éticos e legislações específicas.

**10.5** O Conselho Editorial de CSP se reserva o direito de solicitar informações adicionais sobre os procedimentos éticos executados na pesquisa.

Envio de manuscritos

## **11. Processo de submissão *online***

**11.1** Os artigos devem ser submetidos eletronicamente por meio do sítio do Sistema de Avaliação e Gerenciamento de Artigos (SAGAS), disponível em <http://www.ensp.fiocruz.br/csp/>.

Outras formas de submissão não serão aceitas. As instruções completas para a submissão são apresentadas a seguir. No caso de dúvidas, entre em contato com o suporte sistema SAGAS pelo e-mail: [csp-artigos@ensp.fiocruz.br](mailto:csp-artigos@ensp.fiocruz.br).

**11.2** Inicialmente o autor deve entrar no sistema SAGAS. Em seguida, inserir o nome do usuário e senha para ir à área restrita de gerenciamento de artigos. Novos usuários do sistema SAGAS devem realizar o cadastro em "Cadastre-se" na página inicial. Em caso de esquecimento de sua senha, solicite o envio automático da mesma em "Esqueceu sua senha? Clique aqui".

**11.3** Para novos usuários do sistema SAGAS. Após clicar em "Cadastre-se" você será direcionado para o cadastro no sistema SAGAS. Digite seu nome, endereço, e-mail, telefone, instituição.

## **12. Envio do artigo**

**12.1** A submissão *online* é feita na área restrita do Sistema de Avaliação e Gerenciamento de Artigos (SAGAS). O autor deve acessar a "Central de Autor" e selecionar o *link* "Submeta um novo artigo".

**12.2** A primeira etapa do processo de submissão consiste na verificação às normas de publicação de CSP.

O artigo somente será avaliado pela Secretaria Editorial de CSP se cumprir todas as normas de publicação.

**12.3** Na segunda etapa são inseridos os dados referentes ao artigo: título, título corrido, área de concentração, palavras-chave, informações sobre financiamento e conflito de interesses, resumo, *abstract* e agradecimentos, quando necessário. Se desejar, o autor pode sugerir potenciais consultores (nome, e-mail e instituição) que ele julgue capaz de avaliar o artigo.

**12.4** O título completo (no idioma original e em inglês) deve ser conciso e informativo, com no máximo 150 caracteres com espaços.

**12.5** O título corrido poderá ter máximo de 70 caracteres com espaços.

**12.6** As palavras-chave (mínimo de 3 e máximo de 5 no idioma original do artigo) devem constar na base da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), disponível: <http://decs.bvs.br/>.

**12.7** *Resumo*. Com exceção das contribuições enviadas às seções Resenha ou Cartas, todos os artigos submetidos em português ou espanhol deverão ter resumo na língua principal e em inglês. Os artigos submetidos em inglês deverão vir acompanhados de resumo em português ou em espanhol, além do *abstract* em inglês. O resumo pode ter no máximo 1100 caracteres com espaço.

**12.8** *Agradecimentos*. Possíveis agradecimentos às instituições e/ou pessoas poderão ter no máximo 500 caracteres com espaço.

**12.9** Na terceira etapa são incluídos o(s) nome(s) do(s) autor(es) do artigo, respectiva(s) instituição(ões) por extenso, com endereço completo, telefone e e-mail, bem como a colaboração de cada um. O autor que cadastrar o artigo automaticamente será incluído como autor de artigo. A ordem dos nomes dos autores deve ser a mesma da publicação.

**12.10** Na quarta etapa é feita a transferência do arquivo com o corpo do texto e as referências.

**12.11** O arquivo com o texto do artigo deve estar nos formatos DOC (Microsoft Word), RTF (Rich Text Format) ou ODT (Open Document Text) e não deve ultrapassar 1 MB.

**12.12** O texto deve ser apresentado em espaço 1,5cm, fonte Times New Roman,

tamanho 12.

**12.13** O arquivo com o texto deve conter somente o corpo do artigo e as referências bibliográficas. Os seguintes itens deverão ser inseridos em campos à parte durante o processo de submissão: resumo e *abstract*; nome(s) do(s) autor(es), afiliação ou qualquer outra informação que identifique o(s) autor(es); agradecimentos e colaborações; ilustrações (fotografias, fluxogramas, mapas, gráficos e tabelas).

**12.14** Na quinta etapa são transferidos os arquivos das ilustrações do artigo (fotografias, fluxogramas, mapas, gráficos e tabelas), quando necessário. Cada ilustração deve ser enviada em arquivo separado clicando em "Transferir".

**12.15** *Ilustrações*. O número de ilustrações deve ser mantido ao mínimo, conforme especificado no item 1 (fotografias, fluxogramas, mapas, gráficos e tabelas).

**12.16** Os autores deverão arcar com os custos referentes ao material ilustrativo que ultrapasse o limite e também com os custos adicionais para publicação de figuras em cores.

**12.17** Os autores devem obter autorização, por escrito, dos detentores dos direitos de reprodução de ilustrações que já tenham sido publicadas anteriormente.

**12.18** *Tabelas*. As tabelas podem ter 17cm de largura, considerando fonte de tamanho 9. Devem ser submetidas em arquivo de texto: DOC (Microsoft Word), RTF (Rich Text Format) ou ODT (Open Document Text). As tabelas devem ser numeradas (números arábicos) de acordo com a ordem em que aparecem no texto.

**12.19** *Figuras*. Os seguintes tipos de figuras serão aceitos por CSP: Mapas, Gráficos, Imagens de satélite, Fotografias e Organogramas, e Fluxogramas.

**12.20** Os mapas devem ser submetidos em formato vetorial e são aceitos nos seguintes tipos de arquivo: WMF (Windows MetaFile), EPS (Encapsuled PostScript) ou SVG (Scalable Vectorial Graphics). Nota: os mapas gerados originalmente em formato de imagem e depois exportados para o formato vetorial não serão aceitos.

**12.21** Os gráficos devem ser submetidos em formato vetorial e serão aceitos nos seguintes tipos de arquivo: XLS (Microsoft Excel), ODS (Open Document Spreadsheet), WMF (Windows MetaFile), EPS (Encapsuled PostScript) ou SVG (Scalable Vectorial Graphics).

**12.22** As imagens de satélite e fotografias devem ser submetidas nos seguintes tipos de arquivo: TIFF (Tagged Image File Format) ou BMP (Bitmap). A resolução mínima deve ser de 300dpi (pontos por polegada), com tamanho mínimo de 17,5cm de largura.

**12.23** Os organogramas e fluxogramas devem ser submetidos em arquivo de texto ou

em formato vetorial e são aceitos nos seguintes tipos de arquivo: DOC (Microsoft Word), RTF (Rich Text Format), ODT (Open Document Text), WMF (Windows MetaFile), EPS (Encapsuled PostScript) ou SVG (Scalable Vectorial Graphics).

**12.24** As figuras devem ser numeradas (números arábicos) de acordo com a ordem em que aparecem no texto.

**12.25** Títulos e legendas de figuras devem ser apresentados em arquivo de texto separado dos arquivos das figuras.

**12.26** *Formato vetorial.* O desenho vetorial é originado a partir de descrições geométricas de formas e normalmente é composto por curvas, elipses, polígonos, texto, entre outros elementos, isto é, utilizam vetores matemáticos para sua descrição.

**12.27** *Finalização da submissão.* Ao concluir o processo de transferência de todos os arquivos, clique em "Finalizar Submissão".

**12.28** *Confirmação da submissão.* Após a finalização da submissão o autor receberá uma mensagem por e-mail confirmando o recebimento do artigo pelos CSP. Caso não receba o e-mail de confirmação dentro de 24 horas, entre em contato com a secretaria editorial de CSP por meio do e-mail: [csp-artigos@ensp.fiocruz.br](mailto:csp-artigos@ensp.fiocruz.br).

### **13. Acompanhamento do processo de avaliação do artigo**

**13.1** O autor poderá acompanhar o fluxo editorial do artigo pelo sistema SAGAS. As decisões sobre o artigo serão comunicadas por e-mail e disponibilizadas no sistema SAGAS.

**13.2** O contato com a Secretaria Editorial de CSP deverá ser feito através do sistema SAGAS.

### **14. Envio de novas versões do artigo**

**14.1** Novas versões do artigo devem ser encaminhadas usando-se a área restrita do sistema SAGAS, acessando o artigo e utilizando o *link* "Submeter nova versão".

### **15. Prova de prelo**

**15.1** Após a aprovação do artigo, a prova de prelo será enviada para o autor de correspondência por e-mail. Para visualizar a prova do artigo será necessário o programa Adobe Reader ®. Esse programa pode ser instalado gratuitamente pelo site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>.

**15.2** A prova de prelo revisada e as declarações devidamente assinadas deverão ser

encaminhadas para a secretaria editorial de CSP por e-mail ([cadernos@ensp.fiocruz.br](mailto:cadernos@ensp.fiocruz.br)) ou por fax +55(21)2598-2514 dentro do prazo de 72 horas após seu recebimento pelo autor de correspondência.

**Cadernos de Saúde Pública / Reports in Public Health**

Rua Leopoldo Bulhões 1480 - Rio de Janeiro RJ 21041-210 Brasil

Secretaria Editorial +55 21 2598-2511 :: Assinaturas +55 21 2598-2514

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As espécies *A. coriacea* e *A. dioica* apresentaram atividade inseticida sobre *A. aegypti*, ao contrário de *Xylopiia aromatica* que não apresentou atividade larvicida.

Entre os solventes testados, o etanol foi o que apresentou os melhores resultados quanto à atividade inseticida do extrato sobre larvas do vetor.

As concentrações letais de *A. coriacea* foram alcançadas em baixas concentrações do extrato, indicando o potencial desta espécie para o controle do vetor.

Na avaliação pupicida o extrato da *A. coriacea* demonstrou atividade significativa sobre *A. aegypti*, observando-se uma maior mortalidade de adultos logo após a emergência. Isso demonstra a eficiência da ação de contato desse extrato sobre *A. aegypti*.

O extrato de *A. coriacea* não apresentou atividade adulticida sobre adultos do vetor, todavia, pesquisas inovadoras precisam ser desenvolvidas com outras abordagens metodológica e utilização de concentrações mais elevadas, conforme observados em pesquisas realizadas com outras espécies.

De modo geral, *A. coriacea* se destaca como espécie promissora para o controle de *A. aegypti*, porém novas pesquisas com fracionamento, isolamento e identificação das substâncias ativas, são necessárias para utilização em programas de combate a dengue, com baixo impacto ao homem e ao meio ambiente.